

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

DAS VERHALTEN DER PLASMALIPIDE UNTER
AETHYLALKOHOL UND NIKOTINSÄURE
BEI FASTENDEN VERSUCHSPERSONEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

JOCHEM HOLDER
aus Stuttgart

Marburg/Lahn 1974

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0038

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

DAS VERHALTEN DER PLASMALIPIDE UNTER
AETHYLALKOHOL UND NIKOTINSÄURE
BEI FASTENDEN VERSUCHSPERSONEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

JOCHEM HOLDER

aus Stuttgart

Marburg/Lahn 1974

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg/Lahn am 29. März 1974
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof.Dr.Heinrich Oepen
Referent: Prof.Dr.Hans Kaffarnik
Correferent: Prof. Dr. med.D. Klaus

Meiner Mutter in Dankbarkeit
gewidmet.

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	Seite 1
II	VERSUCHSPERSONEN UND METHODEN	Seite 2
III	STATISTIK	Seite 21
IV	ERGEBNISSE	Seite 24
V	DISKUSSION	Seite 42
VI	ZUSAMMENFASSUNG	Seite 45
VII	LITERATURNACHWEIS	Seite 47

I EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Der Einfluß des Aethylalkohols auf die Serumlipide ist seit langem bekannt und wurde an verschiedenen Modellen untersucht (Lit. bei 29,36,38). Dabei interessieren vor allem an Menschen gewonnene Ergebnisse, die insgesamt gesehen noch immer undurchsichtig sind. Die bisherigen Untersuchungen von Kaffarnik und Mitarbeitern wurden an nüchternen und an isokalorisch ernährten Versuchspersonen durchgeführt, die verschiedene Mengen an Alkohol erhielten (21,28).

Zur Unterstützung oder Entkräftung der Annahme, daß zur akuten alkoholinduzierten Triglyceridsynthese in der Leber vor allem freie Fettsäuren aus der peripheren Lipolyse verwendet werden, haben wir in der vorliegenden Untersuchung die Alkoholwirkung unter gleichzeitiger Gabe eines Lipolysehemmers untersucht. Gleichzeitig prüften wir die Frage, ob zur Lipolysehemmung Glucose notwendig ist.

Wir untersuchten folgende Parameter: Freie Fettsäuren, freies Glycerin, Triglyceride, Phosphatide, Gesamtcholesterin.

II VERSUCHSPERSONEN UND METHODEN

1.) Versuchsanordnung

a) Versuchspersonen und Versuchsbedingungen

Die Versuchspersonen, klinisch gesunde Männer und Frauen im Alter von 23-43 Jahren nahmen 3 Tage vor Versuchsbeginn keinen Alkohol zu sich. Während der Dauer des Versuchs unterblieb körperliche Anstrengung. Eine halbe Stunde vor der Blutentnahme wurde strikte Ruhe eingehalten.

b) Blutprobengewinnung und Lagerung des Plasmas

Die Blutproben wurden aus der leicht gestauten Armvene entnommen und in heparinisierte Röhrchen aufgefangen; anschließend ist das Blut 5 Minuten bei 4000 U/min. zentrifugiert und das Plasma bei minus 60° C eingefroren worden.

2.) Dosierung

Gruppe W 4 Probanden erhielten eine Alkohol-Basisdosis von 0,5 g/kg Körpergewicht und eine Erhaltungsdosis von 0,15 g/kg Körpergewicht je Stunde.

Gruppe WN 5 Probanden nahmen zur Alkoholdosis je 0,5 g Nikotinsäure pro Stunde.

Gruppe WG Bei 5 Probanden wurde ein Drittel der Alkoholkalorien durch Glucose ersetzt.

Gruppe WGN 5 Probanden erhielten zur Alkohol- plus Glucosedosis ebenfalls je 0,5 g Nikotinsäure pro Stunde.

Der Alkohol wurde in Form von durchgeregertem Wein verabreicht mit folgender chemischer Zusammensetzung:

Fructose 0,65 g/l

Glucose 0,52 g/l

Saccharose 0,35 g/l

Alkohol 8,7 V%

Gesamtbrennwert 340 Kcal/0,7 l

3.) Blutentnahmen

Es erfolgten 8 Blutentnahmen und zwar zum Zeitpunkt 0

15 min. nach Trinken der Initialdosis

30 min. nach Trinken der Initialdosis

60 min. nach Trinken der Initialdosis

2 Std. nach Trinken der Initialdosis

5 Std. nach Trinken der Initialdosis

8 Std. nach Trinken der Initialdosis

12 Std. nach Trinken der Initialdosis

4.) Plasmaverarbeitung

Es wurden bestimmt:

1.) Freie Fettsäuren

2.) Freies Glycerin

3.) Triglyceride

4.) Gesamtcholesterin

5.) Phosphatide

6.) Alkohol

Bei den Bestimmungen wurden Qualitätskontrollen durch Feststellung der Präzision in der Serie und der Präzision von Tag zu Tag durchgeführt.

Zu 1: Bestimmung der freien Fettsäuren

Die freien Fettsäuren wurden nach der Methode von DOLE modifiziert nach KEUL bestimmt (13,22).

Prinzip:

Hierbei wird nach Eiweißfällung in einem Isopropanol-Heptan-Schwefelsäuregemisch die Fettsäureextraktion mit Heptan durchgeführt. Anschließend erfolgt eine automatische photometrische Titration mit Tetrabutylammoniumhydroxyd als Titrant und 2 Hydroxybenzene-Azo-2naphtol als Indikator. Um Störungen von CO_2 zu verhindern, wird die Probe mit N_2 durchgeblubbert und überschichtet.

Reagentien:

Extraktionsgemisch: 400 ml Isopropanol
100 ml n-Heptan
10 ml 1 n H_2SO_4

Waschlösung: 0,01 n H_2SO_4

Standards:

Stammlösung: 0,6154 g Palmitinsäure in 1000 ml Heptan

Standard A : 5 ml Stammlösung ad 100 ml Heptan

Standard B : 25 ml Standard A ad 100 ml Heptan

Titrant: 10 ml 0,1 n TBAH in Isopropanol/Methanol
ad 250 ml Aqua bidest.

Indikator: 2 Hydroxybenzene-Azo-2naphtol

Durchführung:

1. Eiweißfällung:

In große Schliffstopfengläser wird jeweils für Leerwert, Standards und Proben 5 ml Extraktionsgemisch pipettiert. Zu den Standards wird je 1 ml der entsprechenden Standardlösung, zu den Proben je 1 ml Plasma gegeben. (Alle Bestimmungen werden als Doppelbestimmungen durchgeführt.) Nach 20 minütigem Schütteln und 10 minütigem Stehenlassen folgt die

2. Extraktion mit Heptan:

Zum Leerwert und den Proben werden 3 ml Heptan, zu den Standards 2 ml Heptan gegeben. Zum Leerwert und den Standards werden dann 4 ml, zu den Proben 3 ml Aqua bidest. pipettiert. Darauf erfolgt nochmaliges Schütteln über 10 Minuten. Nach 10 minütigem Stehenlassen haben sich die Phasen getrennt, die freien Fettsäuren befinden sich in der oberen, der Heptanphase.

3. Waschen mit 0,01 n H_2SO_4 :

Je 3 ml der Heptanphase werden in kleine Schliffstopfengläser überführt, dazu kommen je 3 ml 0,01 n H_2SO_4 . Nach 10 Sekunden dauerndem Schütteln haben wir 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert.

4. Titration:

In 25 ml Meßkolben mit Glasstopfen werden jeweils 2 ml der Heptanphase, 15 ml Isopropanol und 100 ul des Indikators gegeben.

Der Verbrauch an Titrant wurde im automatischen Titrationsphotometer der Firma Radiometer gemessen.

Wir berechnen nach der Formel

$$x = \frac{C \cdot 0,9 + A \cdot 0,3 - B \cdot 1,2}{A - B}$$

Wobei x = Plasmagehalt an freien Fettsäuren in mVal/l

C = Titrationsumschlagspunkt der Probe

A = Titrationsumschlagspunkt von Standard A

B = Titrationsumschlagspunkt von Standard B

bedeutet.

Kritik: Durch die automatische photometrische Titration entfallen die subjektiven Fehlermöglichkeiten bei der Beurteilung des Farbumschlags.

Nachteilig ist neben der Aufwendigkeit der Methode, daß die Titration unter Ausschluß von Luft durchgeführt werden muß, da das Luft - CO₂ die Bestimmung stört.

Zu 2:

Die Glycerinbestimmung wurde nach der von EGGSTEIN und KREUTZ (15) entwickelten enzymatischen Methode vorgenommen. Zur Durchführung der Messungen ist die Biochemica-Test-Combination (Boehringer, Mannheim) herangezogen worden. Um die Konzentration an freiem Glycerin zu bestimmen, mußte zuvor das Plasma enteiweißt und neutralisiert werden.

Prinzip:

Das durch die Enteiweißung und Neutralisation des Plasmas vorliegende freie Glycerin wird mit Hilfe von Glycerokinase enzymatisch bestimmt. Die Reaktionen verlaufen folgendermaßen:

Glycerin wird mit ATP und Glycerokinase unter Bildung von ADP zu Glycerin - 1 - Phosphat phosphoryliert ($\text{Glyc} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glyc.Kin.}} \text{Glyc.-1-phosph.} + \text{ADP}$). Pyruvatkinase dient in der folgenden Reaktion als Katalysator, unter Bildung von Pyruvat und ATP aus Phosphoenolpyruvat und ADP ($\text{PEP} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{Pyruv.Kin.}} \text{ATP} + \text{Pyruvat}$). Pyruvat wird durch NADH mittels Lactatdehydrogenase zu Lactat hydriert, wobei NADH zu NAD oxydiert wird ($\text{Pyruv.} + \text{NADH} + \text{H} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactat} + \text{NAD}$). Die während der Reaktion verbrauchte NADH-Menge ist der umwandlungsfähigen Glycerin-Menge äquivalent.

Reagentien:

Für die Enteiweißung und Neutralisation:

0,60 N Perchlorsäure

Phenolphthalein

0,5 N äthanolische Kalilauge

Für die enzymatische Bestimmung des freien Glycerins:

Arbeitslösung I (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH 7,6;
0,004 M Magnesiumsulfat).

Arbeitslösung II (0,006 M NADH, 0,033 M ATP, 0,011 M PEP)

Arbeitslösung III (2 mg LDH/ml, 1 mg PK/ml)

Arbeitslösung IV (GK 2 mg/ml)

Durchführung der Bestimmung:

1 ml des zu untersuchenden Plasmas und 1 ml 0,6 N Perchlorsäure werden in ein Zentrifugenglas pipettiert. Nach Zentrifugation wird der Überstand abgegossen und 1 ml davon in ein weiteres Zentrifugenglas übertragen. Es wird 0,01 ml Phenolphthalein als Indikator hinzugefügt, mit 0,5 n KOH titriert und erneut zentrifugiert. Kaliumperchlorat fällt aus, der Überstand wird abgegossen und 0,5 ml dieser Lösung in den Test eingebracht.

In eine Küvette pipettieren wir anschließend

2,5 ml Arbeitslösung I

0,1 ml Arbeitslösung II

0,5 ml Überstand

0,02 ml Arbeitslösung III

mischen und lassen 10 min bei Raumtemperatur stehen.

Bei einer Wellenlänge von 366 nm erfolgt im Photometer die Messung der Extinktion E_1 bei einer Schichtdicke von 1 cm. Anschließend wird 0,02 ml der Arbeitslösung IV zugesetzt und nach 10 min erneut im Photometer die Extinktion E_2 gemessen. Die Extinktionsdifferenz des Leerwertes, der bis auf den Überstand in gleicher Weise angesetzt wird, subtrahierten wir von der Extinktionsdifferenz der Proben-Messungen. Wir erhalten damit die korrigierte Extinktionsdifferenz $\Delta E_{\text{korrr.}}$.

$$\text{Probe} \quad \Delta E = E_1 - E_2$$

$$\text{Probe} \quad \Delta E_{\text{korrr.}} = \text{Probe } E - \text{Leerwert } E$$

Berechnung:

Bei der Berechnung des freien Glycerins ist die durch die Enteiweißung und Neutralisation entstandene Verdünnung zu beachten, so daß sich folgender Faktor ergibt:

$$f = \frac{92,1 \times 3,14 \times F \times 2 \times 100}{3,3 \times 0,5 \times 1 \times 1000} \quad \frac{\text{Mol} \times \text{ccm} \times \text{ml} \times \text{ml}}{\text{qcm} \times \text{Mol} \times \text{ccm} \times \text{ml} \times \text{cm}}$$

wobei: 92,1 = Molek.Gewicht von Glycerin
 3,14 = Küvettenvolumen
 F = 1 ml Überstand + 0,01 ml Phenolphthalein + Verbrauch an KOH
 2 = Verdünnungsfaktor der aus 1 ml Perchlorsäure + 1 ml Plasma resultiert
100 = Umrechnung von mg auf ml
 1000

3,3 = Extinktionskoeffizient von NADH bei 366 μ m

0,5 = Menge der eingebrachten Testlösung (Überstand)

1 = Schichtdicke der Küvette bedeuten

daraus folgt: $^{4E}_{\text{korr}} \times f = \text{mg}/100 \text{ ml freies Glycerin}$

Kritik: Nicht frisches und hämolysefreies Serum verfälscht die Meßergebnisse. Bei der Titration muß mit größter Exaktheit vorgegangen werden.

Zu 3:

Die von EGGSTEIN und KREUTZ entwickelte Methode (enzymatisch), wurde zur Bestimmung der Triglyceride herangezogen (15).

Prinzip:

Die im Plasma vorliegenden Triglyceride müssen, damit man sie entsprechend dem freien Glycerin mit der dort beschriebenen Methode bestimmen kann, verseift werden. Anschließend müssen die für das freie Glycerin gefundenen Plasmakonzentrationen von den Konzentrationen an Gesamtglyceriden subtrahiert werden.

Erneut werden die von der Fa. Boehringer entwickelten Biochemica-Test-Combinationen "Neutralfett und Glycerin" zur qualitativen Analyse herangezogen.

Reagentien:

- Arbeitslösung I (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH = 7,6;
0,004 M Magnesiumsulfat)
- Arbeitslösung II (0,006 M NADH; 0,033 M ATP; 0,011 M PEP)
- Arbeitslösung III (2 mg LDH/ml; 1 mg PK/ml)
- Arbeitslösung IV (2 mg GK/ml)
- Äthanolische Kalilauge (0,5 N in 10 ml Aqua bidest lösen,
nach Abkühlen auf 100 ml mit unvergälltem abs. Alkohol auffüllen)
- Magnesiumsulfatlösung (0,15 M mit dest. Wasser lösen und
auf 100 ml auffüllen)

Durchführung der Bestimmung:

Zur Verseifung werden jeweils 0,2 ml Plasma und 0,5 ml äthanolische Kalilauge in ein Zentrifugenglas pipettiert, gemischt, das Zentrifugenglas mit Paraffinfilm verschlossen und 30 min bei 70 Grad im Wasserbad belassen. Nach anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur wird jeweils 1 ml Magnesiumsulfatlösung hinzugegeben, gut gemischt und zentrifugiert. 0,5 ml des Überstandes wird zur Glycerinbestimmung eingesetzt.

Nacheinander werden in eine Küvette 2,5 ml Arbeitslösung I (Triäthanolaminpuffer, Magnesiumsulfat), 0,1 ml Arbeitslösung II (NADH/ATP/PEP), 0,5 ml Überstand und 0,02 ml der Arbeitslösung III (LDH/PK) pipettiert, mit einem Spatel gemischt und 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend bestimmten wir bei einer Wellenlänge von 366 μm die Extinktion E_1 . Danach werden 0,02 ml der Arbeitslösung IV (GK) in die Küvette zugegeben und nach Stillstand der Reaktion nach 10 min die Extinktion E_2 gemessen. Die Extinktionsdifferenz des Leerwerts ist von der Extinktionsdifferenz der Probe zu subtrahieren:

$$\Delta E_{\text{kor}} (\text{Probe}) = \Delta E (\text{Probe}) - \Delta E (\text{Leerwert})$$

Berechnung:

Zur Berechnung der Neutralfettkonzentration im Plasma wird das im Plasma quantitativ bestimmte freie Glycerin vom Gesamt-Glycerin nach Verseifung subtrahiert und mit der Konstante 9,61 multipliziert.

$$\begin{aligned} \text{mg Gesamt-Glycerin/100 ml} - \text{mg freies Glycerin/100 ml} \\ \times 9,61 = \text{mg Neutralfett/100 ml} \end{aligned}$$

Kritik: Das in der Arbeitslösung II enthaltene ATP kann sich durch zu lange und unsachgemäße Lagerung zersetzen, was zu einem zusätzlichen NADH-Verbrauch führen kann, was wiederum für die eigentliche Glycerinbestimmung bedeuten kann, daß die Reaktion vorzeitig zum Stillstand kommt und als Meßergebnis eine zu niedrige Glycerinkonzentration resultiert.

Die spezifische Reaktion auf Glycerin macht keine Fettextraktion, keine Abtrennung der Phosphatide und anderer Substanzen für den Triglyceridnachweis erforderlich. Die Hydrolyse der Triglyceride muß so vorgenommen werden, daß unverändertes Glycerin als Hydrolyseprodukt anfällt. Das läßt sich mit einem 5-fachen Überschuß an äthanolischer Kalilauge durch Eindampfen erreichen. Neben Triglyceriden verseifen unter den vorgegebenen Bedingungen auch Cholesterinester und Glycerophosphate. Aus diesen entsteht kein Glycerin sondern alkalistabiles Glycerophosphat, welches teilweise in β -Glycerophosphat umgewandelt wird. Beide Verbindungen reagieren bei der enzymatischen Glycerinbestimmung nicht mit. Glycerophosphatide stören also die Triglycerid- bzw. Glycerid-Glycerin-Berechnung nicht.

Zu 4:

Die Bestimmung des Cholesterins erfolgt nach der Methode von WATSON (40). Für die Durchführung der Messungen wird die von der Fa. Boehringer entwickelte Biochemica-Test-Combination "Cholesterin" verwendet.

Prinzip:

Cholesterin geht unter Zugabe von Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure eine blaugrün gefärbte Verbindung ein, deren Intensität der Cholesterinkonzentration proportional ist und bei einer Wellenlänge von 560 - 580 μm gemessen wird.

Reagentien:

Arbeitslösung I (200 mg Cholesterin/100 ml Eisessig)

Arbeitslösung II (0,05 mH Dimethylbenzolsulfonsäure;
7,0 M Essigsäure; 6,5 M Essigsäureanhydrid)

Konzentrierte Schwefelsäure

Durchführung der Bestimmung:

In trockene Reagenzgläser werden 0,1 ml Plasma gegeben, entsprechend 0,1 ml der Arbeitslösung I (Standard) bzw. 0,1 ml Aqua bidest für den Leerwert. Hinzu pipettiert man 2,5 ml der Arbeitslösung II und mischt; anschließend werden die Reagenzgläser zum Abkühlen für 5 min in ein Wasserbad von 25 Grad C gestellt.

Dann wird in jedes Glas 0,5 ml konzentrierte Schwefelsäure pipettiert, bis zur Auflösung der Präzipitate gemischt und die Reagenzgläser erneut für 10 min in Wasserbad gestellt. Nun werden die Lösungen in trockene Küvetten überführt und bei einer Wellenlänge von 560 - 580 μ m die Extinktionen der Proben und des Standards gegen die des Leerwerts gemessen.

Berechnung:

Nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz gilt aus der Gleichung 1 und 2 folgend:

$$\frac{E_p}{E_{st}} \times 200 = \text{mg Cholesterin/100 ml Plasma}$$

wobei 200 aufgrund der Konzentration des Cholest. im Standard als Faktor in die Rechnung eingeht.

Kritik: Wegen der Temperaturempfindlichkeit der Reaktion sind die Reagenzgläser während der Schwefelsäurezugabe unbedingt im Wasserbad zu belassen. Hämolytische und ikterische Seren verfälschen die Meßergebnisse.

Zu 5:

Die Bestimmung der Phosphatide erfolgte in zwei Arbeitsgängen:

Die Extraktion der Lipide aus dem Plasma wurden nach der von FOLCH et al (16) entwickelten Methode, die Veraschung nach ALLEN (1) durchgeführt, die Bestimmung der Phosphatide über die Phosphoranalyse nach BARTLETT (5).

Chemikalien:

Chloroform DAB 6
Methanol p.a.
Natriumchlorid p.a.
70 %ige Perchlorsäure p.a.
Ammoniummolybdat p.a.
Natriumsulfit p.a.
1-Amino-2-naphtol-4-sulfonsäure p.a.
Natriumpyrosulfit p.a.
konz. Schwefelsäure p.a.
Kaliumdihydrogenphosphat p.a.

Reagentien:

Ammoniummolybdat 0,22 %ig (1,1 g auf 500 ml Aqua bidest. auffüllen). Zu einer 13,7 %igen Natriumpyrosulfitlösung werden 0,5 g 1-Amino-2-naphtol-4-sulfonsäure und 2 g wasserfreies Natriumsulfit gegeben. Die Lösung wird filtriert; in dunkler Flasche ist sie 2-3 Wochen haltbar.

Zur Herstellung des anorganischen Phosphatstandards werden 0,3509 g des vorgetrockneten Kaliumdihydrogenphosphats in einem 1-Liter-Meßkolben gelöst, 10 ml 10 N Schwefelsäure zugegeben und mit Aqua bidest. auf einen Liter aufgefüllt. Diese Stammlösung enthält in 5 ml 0,4 mg Phosphor und ist unbegrenzt haltbar.

Durchführung als Dreifachbestimmung:

Zur Extraktion der Lipide aus dem Plasma werden 1 ml Plasma und 32 ml Chloroform mit Methanol auf 50 ml aufgefüllt, kurz geschüttelt und anschließend filtriert. 20 ml des Filtrats werden zur besseren Trennbarkeit mit 40 ml gesättigter Natriumchloridlösung in einen Schütteltrichter gegeben, kräftig geschüttelt, und nach ca. 30 min wird die Chloroformphase über einen Filter in ein Reagenzglas abgelassen. Anorganisches Phosphat des Plasmas bleibt in der Salz-Wasser-Äthanolphase zurück. Der aus den Phosphatiden stammende Phosphor befindet sich in der Chloroformphase. Anschließend werden in drei Reagenzgläser je 0,5 ml der Chloroformphase gegeben und im kochenden Wasserbad für 5 - 10 min eingedampft. Danach pipettierten wir in jedes Glas 0,4 ml 70 %ige Perchlorsäure entsprechend in ein leeres Glas zwecks Ermittlung des Leerwerts. Dann folgt die Veraschung aller Proben und des Leerwerts im Sandbad bei 180 - 200 Grad. Nach dem Erkalten gaben wir in jedes Röhrchen 4,6 ml 0,22 %ige Ammoniummolybdatlösung und 0,2 ml Phosphorreagenz und schüttelten Proben und Leerwert. Zum Abschluß werden alle Gläser 7 min lang in kochendes Wasser gestellt und nach Abkühlen die Extinktionen der Proben gegen den Leerwert im Zeiss Spektralphotometer bei 830 nm und 1 cm Schichtdicke bestimmt. In jeder Serie wurden jeweils Standardwerte als Dreifachbestimmungen gesondert mitgeführt (die Standardlösung - 2,5 ml -

werden auf 50 ml mit Aqua bidest. verdünnt, und 0,5 ml dieser Verdünnung gehen als "Tagesphosphorstandard") in den Arbeitsgang, entsprechend der Probe, ein.

Berechnung:

Nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz gilt der Gleichung 1 und 2 folgend:

$$\text{Phosphor/ml Plasma} = \frac{E_p}{E_{st}} \times 4 \times 32$$

wobei 4 und 32 Verdünnungsfaktoren darstellen, die durch die Extraktion der Proben zustande kommen

$$\text{mg/100 ml Phosphor} = \frac{E_p}{E_{st}} \times 4 \times 32 \times 0,1$$

Der Gehalt an Phosphatiden als Lecithin errechnet sich aus dem Phosphorgehalt multipliziert mit dem Faktor 25:

$$\text{mg Phosphatide/100 ml} = \frac{E_p \times 320}{E_{st}} \\ (\text{als Lecithin})$$

Kritik:

Der Nachweis ist sehr empfindlich, Verunreinigungen durch Spülmittel oder schlecht destilliertes Wasser verfälschen die Meßwerte.

Tu 6:

Die Äthanolbestimmung im Plasma nach Bücher (10) beruht auf folgendem Prinzip: Äthanol wird durch NAD mittels ADH zu Acetaldehyd oxydiert. Die während der Reaktion gebildete NADH-Menge ist äquivalent der Äthanol-Menge: $C_2H_5OH + NAD^+ \xrightarrow{ADH} CH_3CHO + NADH + H^+$. NAD ist Meßgröße und aufgrund seiner Adsorption bei 366 nm Wellenlänge zu bestimmen. Zur Durchführung der Bestimmung wurde die von der Fa. Boehringer entwickelte Biochemica-Test-Combination "Blutalkohol" herangezogen.

Reagentien:

Perchlorsäure 0,33 N

Arbeitslösung I (75 mM Pyrophosphatpuffer, pH = 8,7
75 mM Semicarbacit; 21 mM Glycin)

Arbeitslösung II (24 mM NAD)

Arbeitslösung III (30 mg ADH/ml)

Äthanolstandardlösungen: 0,5, 1,0, 2,0 mg Äthanol/ml

Durchführung der Bestimmungen:

Enteweißen und Ansetzen der verdünnten Standard-Lösungen:

In ein Zentrifugenglas werden jeweils 4,0 ml eiskalte 0,33 N Perchlorsäure pipettiert und 0,5 ml Plasma bzw. Äthanolstandardlösung der angegebenen Konzentrationen. Anschlies-

send wird nach gutem Mischen der Niederschlag in der Probe mit einem Glasstab fein verrührt, das Zentrifugenglas mit einem Gummistopfen verschlossen und 5 min. bei ca. 3000 U/min zentrifugiert. Danach folgt Abgießen des Überstandes in ein trockenes Reagenzglas.

In ein Reagenzglas werden jeweils zur Bestimmung des Leerwerts, des Standards und der Probe 4,80 ml der Arbeitslösung I, 0,1 ml der Arbeitslösung II und 0,02 ml der Arbeitslösung III pipettiert. Hinzugefügt werden nun dem Leerwert 0,1 ml 0,33 N Perchlorsäure, dem Standard 0,1 ml der jeweiligen verdünnten Standardlösung und der Probe 0,1 ml des Überstandes nach der Enteiweißung. Nach gutem Mischen verschlossen wir die Gläser mit Parafilm und inkubierten bei 37 Grad 25 min im Wasserbad. Anschließend werden die Extinktionen der Proben und des Standards gegen den Leerwert gemessen.

Berechnung:

Mittels der gegen den Leerwert gemessenen Extinktionen der Standardlösungen und der dazugehörigen Alkohol-Konzentration wird eine Eichkurve aufgestellt, aus der die Alkoholkonzentration des betreffenden Plasmas über die gemessenen Proben-Extinktionen ermittelt werden kann.

Kritik: Schon die geringste Konzentration an Alkohol oder Aldehyd sowohl in der Laboratoriumsluft als auch in dem zur Herstellung der Lösungen verwendeten Wasser verfälscht die Meßwerte. Der Leerwert sollte gegen Luft gemessen eine Extinktion von 0,150 nicht überschreiten. Für jede neu geöffnete Test-Combination empfiehlt es sich, eine Eichkurve aufzustellen.

III STATISTIK

Die Mittelwertberechnung wurde nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

durchgeführt. Die Streuung des Mittelwertes erhält man durch Anwendung der Formel

$$S_m = \frac{S_e}{\sqrt{n}}$$

wobei S_e , die Streuung der Einzelwerte, aus der Formel

$$S_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x(i-\bar{x})^2}{n-1}}$$

hervorgeht.

Zum paarweisen Vergleich mehrerer Mittelwerte untereinander wurde der Duncan-Test herangezogen. Dabei wird zu dem vorgegebenen Signifikanzniveau (5 %, 1 %) eine kritische Differenz berechnet. Ist die beobachtete Differenz zweier Mittelwerte größer als die kritische, liegt Signifikanz auf dem vorgegebenen Niveau vor.

Zur statistischen Berechnung zum Vergleich der Veränderungen zu den einzelnen Zeitpunkten zwischen den Gruppen A - D diente der t-Test (33) für abhängige Stichproben.

Zu jedem zusammengehörigen Meßwertpaar wird die Differenz d gebildet. Anschließend wird die Prüfgröße t gemäß der Formel

$$t = \frac{\sum d}{\sqrt{\frac{n \times \sum d^2 - (\sum d)^2}{n-1}}}$$

bestimmt, wobei n die Anzahl der Meßwertpaare aus beiden Stichproben ist.

Die Größe t ist STUDENT - verteilt mit n - 1 Freiheitsgraden. Aus t und der Anzahl der Freiheitsgrade berechnet sich die Irrtumswahrscheinlichkeit dafür, daß die Stichproben aus verschiedenen Grundgesamtheiten entstammen (41). Von signifikanten Unterschieden kann man sprechen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit 5 % ist. Die Berechtigung zur Anwendung des t-Tests wurde mit Hilfe des Nullklassentests, der zur Prüfung auf Normalverteilung bei n 20 dient, erhalten.

IV ERGEBNISSE

Freie Fettsäuren:

Bei den freien Fettsäuren (Tab. 1-4, Abb.1) fallen die Werte fast gleichmäßig ab, wobei der Abfall in der Gruppe W und WG wesentlich geringer ist, (auf 60 bzw. 44 % des Ausgangswertes) als in der Gruppe WN und WGN, wo die Werte auf 22 bzw. 14 % des Ausgangswertes fallen. Beim letzten Wert war in allen Gruppen ein Anstieg festzustellen.

Ein signifikanter Unterschied war im Verhalten der Gruppen W gegenüber WN und der Gruppen WG gegenüber WGN festzustellen. (Tab. 6)

Triglyceride:

Signifikante Anstiege waren in der Gruppe W (auf 171 % des Ausgangswertes) und in der Gruppe WG (auf 157 %) zu sehen. (Tab. 1 + 3, Abb.2)

In der Gruppe WN kam es lediglich zu einem Anstieg auf 114 %, in der Gruppe WGN auf 118 %. (Tab. 2 + 4, Abb.2)

Zwischen den Gruppen W und WN sowie WG und WGN waren signifikante Unterschiede festzustellen. (Tab. 7)

Der Triglyceridanstieg in den Gruppen WN und WGN blieb weit unterhalb der Gruppen W und WG.

Freies Glycerin:

Signifikant ist der Anstieg des freien Glycerins (Tab. 1 - 4, Abb.3) innerhalb der ersten 30 Minuten bei allen Gruppen, nur in der Gruppe WN hält der anschließende Abfall bis zum 12-Stundenwert an. Während jedoch in der Gruppe W und WN der anfängliche Anstieg nur bis 179 bzw. 167 % geht, erreicht er in der Wein- + Glucosegruppe ein Niveau von 258 bzw. 254 % des Ausgangswertes. Ein signifikanter Unterschied besteht zwischen Gruppe W und WN. (Tab. 8)

Phosphatide:

Bei den Phosphatiden war in den Gruppen W und WG ein geringer, jedoch signifikanter Anstieg auf 114 % bzw. 105 % des Ausgangswertes festzustellen. (Tab. 1 + 3, Abb.4) Es bestand auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe W und WN und WG und WGN. (Tab. 9)

Cholesterin:

Bei den Gruppen W, WG und WN fanden sich keinerlei signifikante Unterschiede während des Versuchs. (Tab. 1 - 3, Abb.4) Lediglich nach Gabe von Wein + Glucose + Nikotinsäure (WGN-Gruppe) kam es am Ende des Versuchs zu einem geringen Abfall des Cholesterins auf 95 %. (Tab. 4) Dieser Unterschied des 12-Stundenwertes läßt sich auch beim Vergleich der Gruppen WG und WGN (Tab. 10) feststellen.

Tabellen:

In den Tabellen 1 - 4 werden die Meßwerte der Plasma-Lipide in ihren zeitlichen, prozentualen Veränderungen, in der Tabelle 5 die gemessene Alkoholkonzentration dargestellt. Signifikanzvergleiche zwischen den einzelnen Gruppen zeigen Tabellen 6 - 10.

Im einzelnen bedeuten:

- Tabelle 1: Alleinige Weingabe
- Tabelle 2: Wein + Nikotinsäure
- Tabelle 3: Wein + Glucose
- Tabelle 4: Wein + Glucose + Nikotinsäure
- Tabelle 5: Alkoholkonzentration im Plasma
- Tabelle 6: Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderung der Freien Fettsäuren
- Tabelle 7: Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderung der Triglyceride
- Tabelle 8: Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderung des Freien Glycerins
- Tabelle 9: Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderung der Phosphatide
- Tabelle 10: Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderung des Cholesterins

Es werden jeweils die Mittelwerte einer Probandengruppe zu einem Zeitpunkt, die Streuung der Einzelwerte, die prozentuale Abweichung zum jeweiligen Zeitpunkt gegenüber dem Basiswert und die Signifikanz angegeben.

		0	15'	30'	60'	2 h	5 h	8 h	12 h
Freie Fettsäuren									
Mittelwert	0,460	0,297	0,273	0,327	0,277	0,235	0,278	0,355	
Streuung ±	0,140	0,060	0,050	0,100	0,091	0,104	0,172	0,197	
Prozentwert	100,0	67,4	61,9	76,0	64,1	52,4	60,6	80,1	
α		5,90	4,34	18,23	9,40	3,97	11,0	36,52	
Triglyceride									
Mittelwert	119,9	125,3	128,8	137,4	149,8	167,8	182,5	198,8	
Streuung ±	50,1	52,2	54,2	64,3	58,4	58,4	64,4	64,2	
Prozentwert	100,0	105,6	108,4	112,5	126,1	143,1	155,4	171,1	
α		36,68	23,66	9,57	0,62	0,26	0,77	0,28	
Freies Glycerin									
Mittelwert	0,936	1,231	1,629	1,074	0,849	0,780	0,849	1,006	
Streuung ±	0,303	0,297	0,439	0,301	0,256	0,373	0,256	0,202	
Prozentwert		134,7	179,2	121,4	92,6	80,1	92,6	115,6	
α		0,05	1,02	46,17	39,11	18,59	39,11	69,16	
Phosphatide									
Mittelwert	220,8	218,3	220,3	222,3	236,8	240,5	248,0	253,8	
Streuung ±	29,9	31,5	31,2	29,6	23,0	27,7	33,7	37,1	
Prozentwert	100,0	99,1	100,0	100,8	107,8	109,4	112,4	114,9	
α		80,40	96,77	71,62	6,75	7,02	0,98	0,68	
Cholesterin									
Mittelwert	216,3	217,5	213,8	217,5	213,8	216,3	217,5	208,8	
Streuung ±	27,8	15,5	27,2	29,0	30,4	18,0	17,1	30,7	
Prozentwert		101,2	98,9	100,7	98,7	100,5	101,2	96,5	
α		86,14	39,11	85,43	39,11	100,00	87,30	31,90	

Tabelle 1

Mittelwerte, Streuung (Standardabweichung) und prozentuale Abweichung der einzelnen Plasmalipide unter Gabe von Wein. (n = 4)
 α = Signifikanzniveau gegen den Ausgangswert 0.

Dimensionen: Freie Fettsäuren - mmol/l; sonst mg/100 ml

0 15' 30' 60' 2 h 5 h 8 h 12 h

Freie Fettsäuren

Mittelwert	0,584	0,296	0,286	0,275	0,179	0,131	0,102	0,140
Streuung ±	0,364	0,072	0,109	0,116	0,073	0,024	0,016	0,094
Prozentwert	100,0	61,8	60,1	61,6	39,1	28,7	22,5	31,2
α		9,29	7,39	9,43	4,61	4,46	3,80	6,25

Triglyceride

Mittelwert	104,5	106,0	106,0	112,9	108,7	120,0	121,4	118,7
Streuung ±	53,0	55,0	56,3	59,6	60,0	61,8	64,5	56,9
Prozentwert	100,0	101,1	100,4	107,6	101,9	114,4	115,2	114,8
α		68,81	60,49	7,05	30,47	1,84	3,12	2,00

Freies Glycerin

Mittelwert	0,720	0,911	1,166	0,971	0,665	0,499	0,489	0,378
Streuung ±	0,152	0,152	0,222	0,351	0,152	0,124	0,244	0,162
Prozentwert	100,0	129,6	167,8	141,0	96,7	70,0	64,9	51,5
α		5,14	1,81	22,93	62,15	1,61	1,69	0,31

Phosphatide

Mittelwert	207,8	205,6	206,0	208,2	207,4	214,4	213,4	214,4
Streuung ±	21,6	28,0	14,7	31,2	23,0	21,2	30,1	25,9
Prozentwert	100,0	98,8	99,5	99,9	100,0	103,3	102,4	103,1
α		73,52	72,17	94,88	95,86	20,42	33,19	5,77

Cholesterin

Mittelwert	207,0	202,0	204,0	201,0	202,0	207,0	204,0	200,0
Streuung ±	24,1	10,4	27,2	24,3	22,0	28,2	25,9	25,5
Prozentwert	100,0	98,2	98,5	97,1	97,7	99,8	98,5	96,6
α		51,87	52,93	14,48	18,91	100,00	50,13	28,04

Tabelle 2

Mittelwerte, Streuung (Standardabweichung) und prozentuale Abweichung der einzelnen Plasmaplipide unter Gabe von Wein + Nikotinsäure. (n = 5) α = Signifikanzniveau gegen den Ausgangswert 0.
Dimensionen: Siehe Legende zu Tabelle 1

	0	15'	30'	28	60'	2 h	5 h	8 h	12 h
Freie Fettsäuren									
Mittelwert	0,342	0,249	0,254	0,172	0,174	0,197	0,147	0,164	
Streuung +	0,110	0,066	0,051	0,072	0,048	0,068	0,045	0,054	
Prozentwerte	100,0	73,8	76,9	52,6	52,1	57,7	44,3	49,3	
α		1,91	7,93	2,67	0,84	0,36	0,67	1,31	
Triglyceride									
Mittelwerte	65,7	72,9	71,4	70,0	77,2	88,9	93,1	104,4	
Streuung +	13,8	16,5	20,3	12,0	13,8	23,0	29,0	28,7	
Prozentwert	100,0	111,2	107,6	108,0	118,4	135,1	140,3	157,9	
α		14,06	24,41	29,73	0,22	1,11	2,18	0,58	
Freies Glycerin									
Mittelwert	0,609	1,096	1,387	0,831	0,554	0,653	0,663	0,720	
Streuung +	0,232	0,267	0,207	-	0,277	0,269	0,154	0,152	
Prozentwert	100,0	196,7	258,8	160,0	90,0	124,7	122,6	143,3	
α		0,26	0,20	9,93	37,40	81,17	63,04	47,68	
Phosphatide									
Mittelwert	210,4	210,0	207,4	208,6	218,4	212,8	219,2	223,0	
Streuung +	14,7	16,4	8,9	18,9	17,5	13,2	22,3	20,4	
Prozentwert	100,0	99,8	99,0	99,1	103,9	101,5	104,0	105,9	
α		87,49	72,13	72,75	22,91	78,63	11,05	1,23	
Cholesterin									
Mittelwert	200,4	200,4	200,4	205,4	200,2	203,0	201,4	203,0	
Streuung +	10,9	8,6	9,3	8,0	6,0	4,5	13,1	2,7	
Prozentwert	100,0	100,6	100,7	102,8	100,1	101,5	100,5	101,5	
α		100,00	100,00	44,58	96,28	57,59	77,83	57,59	

Tabelle 3

Mittelwerte, Streuung (Standardabweichung) und prozentuale Abweichung der einzelnen Plasmaplipide unter Gabe von Wein + Glucose. (n = 5) α = Signifikanzniveau gegen den Ausgangswert 0.
Dimensionen: Siehe Legende zu Tabelle 1

Freie Fettsäuren

Mittelwert	0,314	0,200	0,185	0,113	0,087	0,068	0,039	0,041
Streuung +	0,173	0,105	0,092	0,062	0,056	0,066	0,027	0,013
Prozentwert	65,5	57,9	38,5	29,1	19,1	14,2	20,9	20,9
α	2,14	7,10	3,75	1,90	1,04	1,98	2,72	2,72

Triglyceride

Mittelwert	65,8	70,0	71,5	72,7	64,4	70,0	77,2	72,9
Streuung +	12,1	15,7	11,5	12,9	17,7	16,5	13,8	13,9
Prozentwert	100,0	106,0	109,3	111,5	96,9	106,0	117,9	111,8
α	20,81	10,24	20,08	70,42	30,47	3,34	24,12	24,12

Freies Glycerin

Mittelwert	0,423	0,790	1,012	0,735	0,544	0,479	0,423	0,433
Streuung +	0,179	0,392	0,426	0,276	0,214	0,256	0,179	0,166
Prozentwert	200,2	254,6	190,2	138,8	141,4	117,0	118,8	118,8
α	6,74	1,64	3,51	17,98	73,26	100,00	92,21	92,21

Phosphatide

Mittelwert	208,8	206,6	207,6	208,6	204,0	202,2	204,6	207,8
Streuung +	10,5	17,5	23,7	16,6	5,5	14,3	18,2	9,8
Prozentwert	100,0	99,0	99,4	100,1	97,9	96,9	98,2	99,6
α	76,86	90,30	100,00	47,29	33,82	68,56	72,30	72,30

Cholesterin

Mittelwert	201,6	199,4	198,6	196,6	199,4	194,4	192,6	190,6
Streuung +	9,5	12,2	16,2	17,5	16,1	12,4	11,5	8,9
Prozentwert	100,0	98,9	98,5	97,4	98,8	96,4	95,6	94,6
α	52,19	66,59	23,03	58,63	2,59	16,72	1,09	1,09

Tabelle 4

Mittelwerte, Streuung (Standardabweichung), und prozentuale Abweichung der einzelnen Plasmaplipide unter Gabe von Wein + Glucose + Nikotinsäure. (n = 5) α = Signifikanzniveau gegen den Ausgangswert 0. Dimensionen: Siehe Legende zu Tabelle 1

Gruppe W		Versuchspersonen				Gruppe WN				
	G.M.	H.K.	A.N.	N.N.		G.M.	H.K.	A.N.	I.H.	J.S.
15'	0,30	0,26	0,27	0,13		0,48	0,42	0,57	0,25	0,22
30'	0,53	0,41	0,57	0,30		0,65	0,52	0,78	0,57	0,28
60'	0,65	0,61	0,64	0,80		0,73	0,75	0,94	0,67	0,44
2 h	0,75	0,67	1,04	0,90		0,75	0,78	1,05	0,77	0,78
5 h	1,15	0,80	1,46	1,10		1,00	0,96	1,50	1,01	0,98
8 h	1,43	0,96	1,53	1,02		1,06	1,02	1,63	1,07	1,08
12 h	1,68	0,78	1,49	0,69		0,72	0,92	1,90	1,24	0,77
Gruppe WG						Gruppe WGN				
	O.M.	I.H.	M.W.	R.S.	D.S.	O.M.	I.H.	M.W.	R.S.	J.S.
15'	0,42	0,05	0,18	0,30	0,33	0,42	0,18	0,23	0,28	0,27
30'	0,52	0,10	0,33	0,51	0,45	0,45	0,31	0,38	0,41	0,30
60'	0,50	0,14	0,44	0,53	0,57	0,46	0,42	0,49	0,59	0,35
2 h	0,49	0,20	0,49	0,56	0,63	0,52	0,44	0,51	0,65	0,49
5 h	0,71	0,19	0,51	0,47	0,70	0,59	0,46	0,62	0,70	0,50
8 h	0,75	0,23	0,68	0,52	1,29	0,76	0,48	0,62	0,75	0,54
12 h	0,80	0,25	0,52	0,35	1,53	0,78	0,52	0,65	0,70	0,45

Tabelle 5
Alkoholkonzentration im Plasma (‰)

a) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Nikotin-
säuregruppe (WN) c) Zwischen Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	69,29	Zeitpunkt	15'	=	74,59
	30'		91,06		30'		89,55
	1 h		59,30		1 h		30,04
	2 h		15,55		2 h		41,78
	5 h		6,25		5 h		25,82
	8 h		3,07		8 h		22,10
	12 h		5,00		12 h		43,95

b) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Glucose-
gruppe (WG) d) Zwischen Wein + Glucosegruppe (WG) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	43,96	Zeitpunkt	15'	13,66
	30'	18,99		30'	16,87
	1 h	23,80		1 h	31,65
	2 h	34,15		2 h	1,43
	5 h	58,32		5 h	0,03
	8 h	29,87		8 h	0,25
	12 h	16,62		12 h	3,93

Tabelle 6

Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderungen der Freien Fettsäuren

a) Zwischen weinsgruppe (W) und Wein + Nikotin-
säuregruppe (WN)

Zeitpunkt	15'	=	53,62
	30'		24,29
	1 h		30,74
	2 h		0,15
	5 h		1,98
	8 h		1,51
	12 h		0,09

c) Zwischen Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	46,08
	30'		17,45
	1 h		60,59
	2 h		48,03
	5 h		20,79
	8 h		61,71
	12 h		74,83

b) Zwischen weinsgruppe (W) und Wein + Glucose-
gruppe (WG)

Zeitpunkt	15'	=	50,75
	30'		92,63
	1 h		59,77
	2 h		13,05
	5 h		37,21
	8 h		20,34
	12 h		30,39

d) Zwischen Wein + Glucosegruppe (WG) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	49,57
	30'		82,87
	1 h		72,16
	2 h		1,20
	5 h		0,61
	8 h		3,78
	12 h		0,23

labelle 7

Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderungen der Triglyceride

a) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) c) Zwischen Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) und Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	72,07
	30'		71,49
	1 h		63,09
	2 h		83,25
	5 h		49,89
	8 h		7,28
	12 h		0,93

Zeitpunkt	15'	=	6,97
	30'		8,37
	1 h		27,94
	2 h		22,33
	5 h		28,50
	8 h		17,71
	12 h		11,47

b) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Glucosegruppe (WG) d) Zwischen Wein + Glucosegruppe (WG) und Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	12,96
	30'	19,43
	1 h	41,44
	2 h	84,76
	5 h	23,44
	8 h	29,64
	12 h	59,41

Zeitpunkt	15'	92,53
	30'	94,64
	1 h	53,32
	2 h	13,97
	5 h	80,14
	8 h	89,39
	12 h	65,46

Tabelle 8

Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderungen des Freien Glycerins

- a) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) c) Zwischen Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) und Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	95,79	Zeitpunkt	15'	=	96,67
	30'		89,18		30'		99,29
	1 h		81,01		1 h		96,09
	2 h		14,78		2 h		66,02
	5 h		16,97		5 h		11,84
	8 h		1,70		8 h		45,03
	12 h		0,04		12 h		6,94

- b) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Glucosegruppe (WG) d) Zwischen Wein + Glucosegruppe (WG) und Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	85,12	Zeitpunkt	15'	82,81
	30'	84,42		30'	93,81
	1 h	58,43		1 h	82,19
	2 h	36,72		2 h	16,48
	5 h	18,22		5 h	37,32
	8 h	1,80		8 h	28,73
	12 h	0,30		12 h	0,75

Tabelle 9

Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderungen der Phosphatide

a) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Nikotin-
säuregruppe (WN) c) Zwischen Wein + Nikotinsäuregruppe (WN) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	=	55,77	Zeitpunkt	15'	=	86,19
	30'		87,61		30'		98,61
	1 h		29,20		1 h		92,33
	2 h		60,82		2 h		65,41
	5 h		81,67		5 h		5,06
	8 h		50,51		8 h		38,77
	12 h		97,07		12 h		48,47

35

b) Zwischen Weingruppe (W) und Wein + Glucose-
gruppe (WG) d) Zwischen Wein + Glucosegruppe (WG) und
Wein + Glucose + Nikotinsäuregruppe (WGN)

Zeitpunkt	15'	72,55	Zeitpunkt	15'	53,41
	30'	53,90		30'	67,81
	1 h	64,56		1 h	17,79
	2 h	61,72		2 h	66,69
	5 h	80,64		5 h	7,71
	8 h	85,25		8 h	15,32
	12 h	20,04		12 h	2,72

Tabelle 10

Signifikanzniveau beim Vergleich der prozentualen Veränderungen des Cholesterins

Graphische Darstellungen

Die Abbildungen 1 - 5 zeigen das Verhalten der einzelnen Plasma-Lipidfraktionen in den verschiedenen Gruppen.

Abbildung 1: Prozentuale Abweichung der Freien Fettsäurewerte vom Ausgangswert in der Weingruppe W
der Wein- + Nikotinsäuregruppe WN
der Wein- + Glucosegruppe WG und
der Wein- + Glucose- + Nikotinsäuregruppe WGN

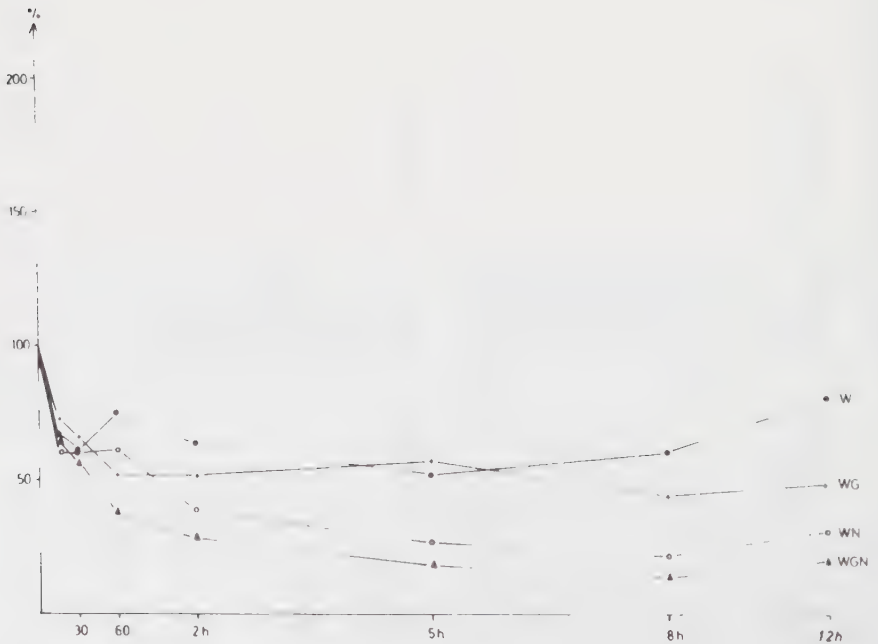


Abbildung 2: Prozentuale Abweichung der Triglyceridwerte vom Ausgangswert in der Weingruppe W, der Wein- + Nikotinsäuregruppe WN, der Wein- + Glucosegruppe WG und der Wein- + Glucose- + Nikotinsäuregruppe WGN

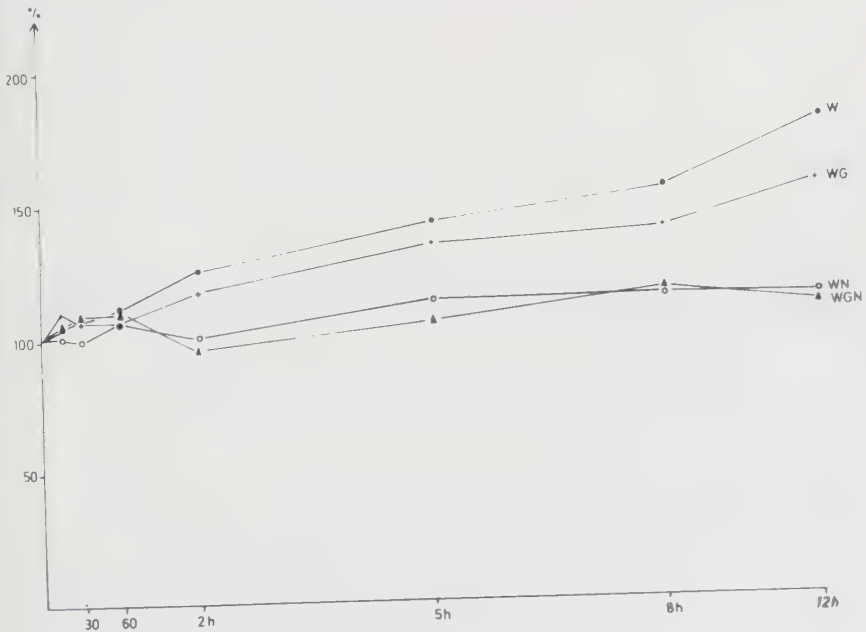


Abbildung 3: Prozentuale Abweichung der Freien Glycerinwerte vom Ausgangswert in der Weingruppe W, der Wein- + Nikotinsäuregruppe WN, der Wein- + Glucosegruppe WG und der Wein- + Glucose- + Nikotinsäuregruppe WGN



Abbildung 4: Prozentuale Abweichung der Phosphatidwerte vom Ausgangswert in der Weingruppe W, der Wein- + Nikotinsäuregruppe WN, der Wein- + Glucosegruppe WG und der Wein- + Glucose- + Nikotinsäuregruppe WGN

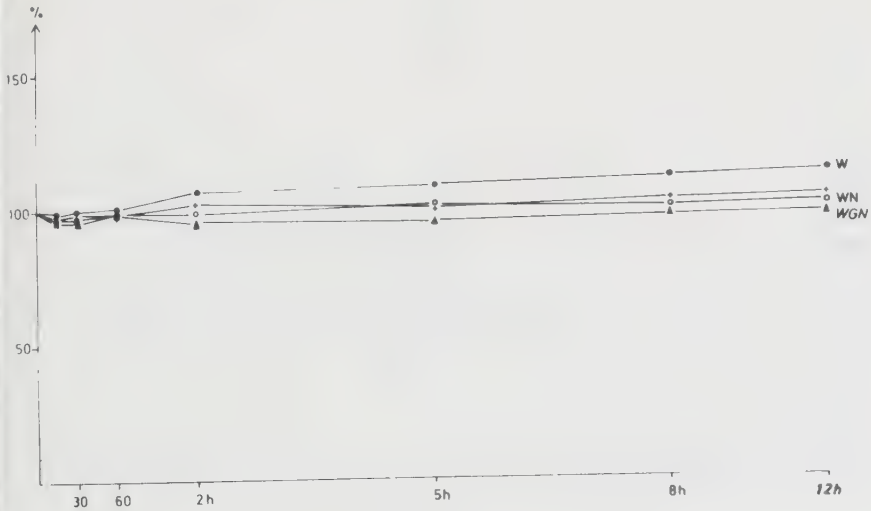


Abbildung: 5 Prozentuale Abweichung der Cholesterinwerte vom Ausgangswert in der Weingruppe W, der Wein- + Nikotinsäuregruppe WN, der Wein- + Glucosegruppe WG und der Wein- + Glucose- + Nikotinsäuregruppe WGN



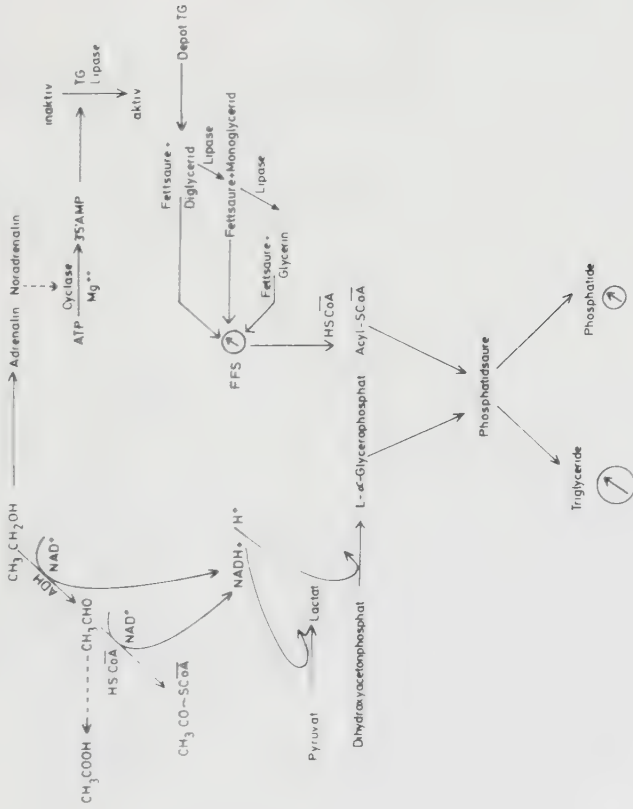


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Beeinflussung des Lipidstoffwechsels im peripheren Fettgewebe und in der Leber durch Äthylalkohol.

V DISKUSSION

In der Literatur werden hauptsächlich folgende Möglichkeiten für die Ursachen der Serum-Lipidveränderungen bei Alkoholeinwirkung diskutiert:

Einmal wird die Erhöhung der Triglyceride auf eine de novo Synthese von Fettsäuren (14,20,23,23 a) durch den vermehrten Anfall von Acetyl-CoA und Wasserstoff (18) als Folge des Alkoholabbaus angenommen. Zum anderen wird eine vermehrte Freisetzung von Fettsäuren in der Peripherie für den Anstieg der Triglyceride und das Verhalten der Freien Fettsäuren verantwortlich gemacht (19,26,27,34).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen signifikante Unterschiede im Verhalten der Freien Fettsäuren, der Triglyceride und der Phosphatide unter Alkohol allein und bei der zusätzlichen Gabe von Nikotinsäure. Der Abfall der Freien Fettsäuren ist in den Alkoholgruppen wesentlich geringer als in den Gruppen, die zusätzlich Nikotinsäure erhalten haben. Die Triglyceride hingegen steigen in den Alkoholgruppen kontinuierlich an. Bei zusätzlicher Gabe von Nikotinsäure ist der Anstieg gering. Die Phosphatide lassen in den Alkoholgruppen zwar einen geringeren Anstieg als die Triglyceride erkennen, er ist jedoch höher als bei der Alkohol- Nikotinsäuregruppe.

Die Ursache der Lipolyse-Blockierung durch Gabe von Nikotinsäure besteht in einer selektiven β -sympatholytischen Wirkung im Fettgewebe (2,3,4,6,11,17).

Skidmore et al (37) haben über eine Hemmung der Adenylcyclase eine verminderte Produktion von zyklischem AMP, das normalerweise eine Triglycerid-Lipase im peripheren Fettgewebe aktiviert, angenommen.

Wenn wir diese Wirkung der Nikotinsäure der Interpretation unserer Ergebnisse zugrunde legen, so müssen der Unterschied im Abfall der Freien Fettsäuren ebenso wie der signifikant verminderte Anstieg der Triglyceride und Phosphatide unter Einwirkung der Nikotinsäure als Ausdruck einer durch Nikotinsäure verminderten peripheren Lipolyse angesehen werden. Dafür spricht auch folgendes Verhalten:

Beim Vergleich der Gruppe Alkohol gegen Alkohol-Glucose und Alkohol-Nikotinsäure gegen Alkohol-Glucose-Nikotinsäure finden sich im prozentualen Abfall der Freien Fettsäuren keine signifikanten Unterschiede (Tab. 6). Vergleichen wir hingegen die Alkoholgruppe gegen die Alkohol-Nikotinsäuregruppe und die Alkohol-Glucosegruppe gegen die Alkohol-Glucose-Nikotinsäuregruppe, dann sind Signifikanzen deutlich erkennbar. Analoge Ergebnisse zeigt der Triglyceridanstieg (Tab. 7). Der Abfall der Freien Fettsäuren in allen Gruppen (in den Nikotinsäuregruppen Signifikanz stärker und länger) läßt sich durch die kurze Halbwertszeit der Freien Fettsäuren und durch die sofort einsetzende Triglyceridsynthese in der Leber zwanglos erklären. Bei zusätzlicher Gabe von Glucose ist der Abfall der Freien Fettsäuren jeweils stärker. Die Glucose dient in der Fettzelle über die Umwandlung in α -Glycerophosphat den aus der Lipolyse der Triglyceride stammenden Fettsäuren als Substrat für die Re-Veresterung. Somit werden bei gleichzeitiger Gabe von Alkohol und Glucose weniger Fettsäuren in das strömende Blut entlassen. Gleichzeitig scheint

die Ausschöpfung von Freien Fettsäuren in der Leber zur hepatischen Triglyceridsynthese weiterzugehen.

Das Verhalten des Freien Glycerins ist unter Nikotinsäure nicht so auffallend verändert. Hier spielen, wie bereits beschrieben (31,38) Kohlenhydrat-Stoffwechselvorgänge eine entscheidendere Rolle.

Bei den bereits bekannten Veränderungen im Verhalten der Plasma-Lipide unter Alkohol, vor allem bei der Vermehrung der Triglyceride und geringer der Phosphatide spielt bei fastenden Versuchspersonen in erster Linie eine vermehrte periphere Lipolyse über eine vermehrte Freisetzung von Katecholaminen durch Aethanol (9,12,24,25,32) eine wesentliche Rolle. Bei gleichzeitiger Erhöhung des L- α -Glycero-phosphats (30,38) durch den Alkoholabbau kommt es zu einer Erhöhung der Syntheseleistung für Triglyceride in der Leber (Abb. 6). Unsere Versuche mit und ohne Lipolyse-Blockierung sprechen für dieses Verhalten.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Bode et al (7,8) im Tierversuch; dabei wurden das Verhalten der Triglyceride in der Leber von Ratten unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Die Beobachtung von Scheig (35), daß beim Versuchstier nach Alkoholzufuhr das Fettsäuremuster in der Leber dem der Peripherie gleicht, paßt ebenfalls zu unseren am Menschen gewonnenen Befunden.

VI ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Unter Gabe von Wein allein, Wein + Glucose allein und zusätzlicher Gabe von Nikotinsäure wurden bei 19 stoffwechselgesunden Probanden im Alter von 23-43 Jahren die Triglyceride, die Freien Fettsäuren, Phosphatide, Cholesterin und das Freie Glycerin im Serum bestimmt.

- 2.) Die Triglyceride + Phosphatide stiegen bei der Wein- und der Wein- + Glucosegruppe signifikant an. Die Freien Fettsäuren ließen einen initialen Abfall bei beiden Kollektiven, bei der Weingruppe einen konsekutiven Anstieg erkennen. Gleichzeitige Nikotinsäuregabe führte zu signifikant geringerem Anstieg der Triglyceride und der Phosphatide in beiden Gruppen. Der Abfall der Freien Fettsäuren war bei beiden Nikotinsäurekollektiven signifikant stärker.

- 3.) Die Wirkung der Nikotinsäure als Lipolysehemmer ist unumstritten. Daher muß der verminderte Anstieg von Triglyceriden und Phosphatiden, der vermehrte Abfall der Freien Fettsäuren unter gleichzeitiger Gabe von Alkohol und Nikotinsäure Ausdruck einer verminderten Lipolyse sein.

- 4.) Aus den deutlichen Unterschieden, die eine Lipolyseblockierung mit Nikotinsäure bei den Triglyceridanstiegen hervorruft, wird geschlossen, daß die Fettsäuren

zur Triglycerid- und Phosphatidsynthese nach Zufuhr von Alkohol über eine vermehrte Lipolyse aus dem peripheren Fettgewebe stammen müssen.

VII LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) ALLEN, R.J.L. The estimation of phosphorus
Biochem.J. 34, 858 (1940)
- 2.) AMMON, H.P.T. Different effects of inhibition of
C-J. ESTLER, lipolysis by nicotinic acid on the
F. HEIM and rate of glycolytic carbohydrate
B. OKORONKWO breakdown in brain and skeletal
muscle
Life Sciences 8 Part II pp. 213-221
(1969)
- 3.) AMMON, H.P.T. and The effect of nicotinic acid on
C-J. ESTLER glycolytic carbohydrate breakdown
in the liver
Life Sciences Vol 6 641 (1967)
- 4.) BARBORIAK, J.J. and Nicotinic acid and alcohol induced
R.C. MEADE lipemia
Atherosclerosis 13, 199 (1971)
- 5.) BARTLETT, G.R. Phosphorus assay in column chromatography
J.Biol.Chem. 234, 466 (1959)
- 6.) BJÖRNTORP, P. The effect of nicotinic acid on adi-
pose tissue metabolism in vitro
Metabolism 14, 836, (1965)
- 7.) BODE, CH., On the independence of the ethanol-
Christiane BODE, induced triglyceride accumulation in
H. GOEBELL, the liver from metabolic changes
H. KONO due to the oxidation of ethanol in
G.A. MARTINI the liver
Metabolic changes induced by alcohol
edited by G.A. MARTINI and CH.BODE
S. 133
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-
New York

- 8.) BODE, Ch. und
H. GOEBELL
Zur Pathogenese der durch Alkohol
induzierten Fetteinlagerung in
der Leber
Klin. Wschr. 49, 1201 (1971)
- 9.) BRODIE, B. B.,
R. P. MAICKEL
Role of sympathetic nervous system in
drug induced fatty livers
Ann. N. Y. Acad. Sci. 104, 1049 (1963)
- 10.) BÜCHER, TH. und
H. REDETZKI
Eine spezifische photometrische Be-
stimmung von Aethylalkohol auf fer-
mentativem Wege
Klin. Wschr. 29, 615 (1951)
- 11.) CARLSON, L. A. and
L. ORÖ
The effect of nicotinic acid on the
plasma free fatty acids
Act. med. scand. Vol 172, fasc. 6,
(1962)
- 12.) DITSCHUNEIT
Die hormonelle Regulation von Lipo-
lyse und Lipogenese des Fettgewebes
Therapiewoche Heft 45/1968 2015
- 13.) DOLE, V. P.
A relation between non-esterified
fatty acids in plasma and the meta-
bolism of glucose
J. Clin. Invest. 35, 150 (1956)
- 14.) EGGER, W.
Das zentrale und periphere Funktions-
feld des Leberläppchens unter Aethyl-
und Methylalkohol
Med. Monatsschrift 6 363 (1952)

- 15.) EGGSTEIN, M.
F.H.KREUTZ

Eine neue Bestimmung der Neutral-
fette im Blutserum und Gewebe

Klin.Wschr. 44, 262 (1966)

- 16.) FOLCH, J.,
M.LEES and
D.H.SLOANE-STANDLEY

A simple method for the isolation and
purification of total lipids from
animal tissues

J.Biol.Chem. 226, 497 (1957)

- 17.) FRÖBERG, S. and
L.ÖRÖ

The effects of nicotinic acid, phen-
tolamine and nethalide on the plasma
free fatty acids and the blood pressure
in the dog.

Act.Med.Scand. 174, 635 (1963)

- 18.) GORDON, Ellen R.

The effect of chronic consumption
of ethanol on the redox state of the
rate liver

Canadian Journal of Biochemistry
Vol 50, 949 (1972)

- 19.) HORNING, T.G.,
E.A.WILLIAMS,
H.M.MALING,
B.B.BRODIE

Depot fat as source of increased
liver triglycerides after ethanol

Biochem.Biophys.Res.Comn. 3, 635 (1960)

- 20.) ISSELBACHER, K.J.

Relation between ethanol and liver
metabolism

Alkohol und Leber
Internationales Symposium Freiburg
i. Breisgau

- 21.) KAFFARNIK, H.,
J.SCHNEIDER

Zur kurzfristigen Wirkung des Aethyl-
alkohols auf die Serumlipide gesunder
fastender Personen

Z.ves.exp.Med. 152, 187 (1970)

- 22.) KEUL, J.,
N. LINNET,
E. ESCHENBRUCH
- The photometric autotitration of
free fatty acids
- Klin.Chem. und Biochem. 6 394 (1968)
- 23.) LIEBER, CH.S. and
R. SCHMID
- The effect of ethanol on fatty acid
metabolism: stimulation of fatty
acid synthesis in vitro
- J.Clin.invest. 40, 324 (1961)
- 23.)a LIEBER, CH.S.
- Metabolic derangement induced by
alcohol
- Ann.Rev.Med. 18, 35 (1967)
- 24.) MACKAY, E.M.
- Influence of adrenalectomy on liver
fat as varied by diet and other
factors
- Am.J.Physiol. 120, 361 (1937)
- 25.) MAICKEL, R.P.,
R. PAOLETTI
- Role of pituitary-adrenal system in
derangement of fat mobilization
produced by ethanol
- Fed.Proc. 20, 276 (1961)
- 26.) MALING, H.M.,
M.G. HORNING,
W.M. jr. BUTLER,
B. HIGHMAN,
B.B. BRODIE
- Triglyceride deposition in rat liver
through derangement of fat transport
by various chemical agents
- Fed.Proc. 19, 229 (1960)
- 27.) MALLOWS, S.
- Effect of ethanol intoxication on
plasma free fatty acids in the rat
- Quart.J.Stud.Alcohol 22, 250 (1961)

- 28.) MÜHLFELLNER, G.,
O. MÜHLFELLNER,
H. KAFFARNIK
Die Wirkung des Aethylalkohols auf
die Plasmalipide isokalorisch er-
nährter Versuchspersonen
Z. ges. exp. Med. 154, 22 (1970)
- 29.) MÜHLFELLNER, G.
Über den Einfluß von Aethylalkohol
auf die Serumlipide isokalorisch er-
nährter Probanden.
Inauguraldissertation Marburg 1969
- 30.) NIKKILÄ, E. A.,
K. OJALA
Role of hepatic L-alpha-glycerophosphate
and triglyceride synthesis in produc-
tion of fatty liver by ethanol
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 113, 814
(1963)
- 31.) PAPENBERG, J.
Metabolism of ethanol and fructose in
the perfused rat liver
Enzym. Biol. Clin. (Basel), 11, 237 (1970)
- 32.) RIZACK, J. A.
An epinephrine - sensitive lipolytic
activity in adipose tissue
J. Biol. Chem. 236, 657 (1961)
- 33.) SACKS, L.
Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag Berlin (1969)
S. 309 - 311

- 34.) SCHAPIRO, R.H.,
R.L.SCHEIG,
G.D.DRUMMEY,
J.H.MENDELSON,
K.J.ISSELBACHER
Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and metabolism of lipids in man
New Engl.J.Med. 272, 610 (1965)
- 35.) SCHEIG, R.
Ethanol and lipid metabolism
Internationales Symposium in
Freiburg i. Breisgau
"Alkohol und Leber" (1970) S. 85
- 36.) SCHNEIDER, J.
Zur kurzfristigen Wirkung des
Aethylalkohols auf die Serumlipide
bei gesunden Versuchspersonen
Inauguraldissertation Marburg 1969
- 37.) SKIDMORE, J.-F.,
P.S.SCHÖNHÖFER,
D.KRITSCHESKY
Effects of nicotinic acid and some
of its homologues on lipolysis,
adenyl-cyclase, phosphodiesterase
and cyclic AMP accumulation in
isolated fat cells
Pharmacology 6 330 (1971)
- 38.) TESDORPE, M.
Der Einfluß von Aethylalkohol und
Fructose auf Plasmalipide und
Metabolite des Fettstoffwechsels
bei gesunden fastenden Versuchspersonen
Inauguraldissertation Marburg 1973
- 39.) TZUR, R.,
E.TAL,
B.SHAPIRO
L-alpha-glycerophosphate as regular
factor in fatty acid esterification
Biochem.Biophys.Acta 84 S. 18
(1964)

- 40.) WATSON, D. A simple methode for the determination
 of serumcholesterol

 Clin.Chem.Acta 5 637 (1960)
- 41.) WEBER, E. Grundriss der biologischen Statistik

 5. Auflage VEB Gustav Fischer-Verlag
 Jena 1964, S. 136

Herrn Prof.Dr.D.Klaus, Direktor der Medizinischen Poliklinik, danke ich für die Möglichkeit zur Durchführung der wissenschaftlichen Arbeit.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Prof.Dr.H.Kaffarnik und Herrn Dr.J.Schneider für die Überlassung des Themas, Herrn und Frau Drs.Mühlfellner für ihre freundliche Hilfestellung bei der Durchführung der Arbeit aussprechen.

Außerdem danke ich Fräulein Mertens für die Hilfe bei der Alkoholbestimmung.

Herrn Diplom-Mathematiker P.Zöfel im Rechenzentrum der Universität Marburg/Lahn danke ich für die statistische Auswertung der Ergebnisse.

L E B E N S L A U F

Am 4.9.1941 wurde ich als Sohn des Julius Holder und seiner Ehefrau Bertl, geborene Atenöder, in Stuttgart geboren. 1943 starb mein Vater in Stalingrad. Im selben Jahr wurde unsere Wohnung in Stuttgart ausgebombt und meine Mutter mit mir nach Bachenau Kreis Heilbronn evakuiert, wo ich 1947 eingeschult wurde. Nach unserem Umzug 1950 nach Wangen/Allg. kam ich ins dortige Gymnasium wo ich 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Nach einigen Semestern Jura und Medizin in Tübingen begann ich 1963 eine Buchhändlerlehre bei Christian Kaiser in München, die ich 1966 mit der Kaufmannshilfenprüfung abschloß. Im selben Jahr fing ich in Bonn wieder an Medizin zu studieren. Nach dem Physikum 1969 wechselte ich nach Marburg über, wo ich das Studium abschloß.

Seit 1967 bin ich mit Erika Girardet verheiratet.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Bonn: Egli, Goslar, Hagen, Pichotka, Schriefers, Steudel, Tscheche, Willenbrinck, Zilleken.

in Marburg: Beckmann, Berendes, Buchholz, Dittrich, Dölle, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Graul, Hamelmann, Heuser, Hort, Jacob, Kaffarnik, Koransky, Korb, Linneweh, Mann, Martini, Pots, Reim, Rodeck, Rohen, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Siess, Strohmeyer, Straub, Willenbockel.

